

校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21620101152432

UDC_____

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

拟南芥 FT 蛋白在细胞内定位的研究

The research on the cellular localization of
FT protein in *Arabidopsis*

王晓伟

指导教师姓名: 黄 涛 教 授

专 业 名 称: 细 胞 生 物 学

论文提交日期: 2013 年 月

论文答辩时间: 2013 年 月

学位授予日期: 2013 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2013 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的
研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表
的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规
范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)
的研究成果,获得()课题(组)经费或
实验室的资助,在()实验室完成。(请在
以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此
项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘 要.....	1
Abstract.....	2
第一章 前 言.....	3
1 开花途径.....	3
2 <i>FT</i> 的研究.....	9
3 脂筏.....	10
4 蛋白质的合成和运输.....	11
5 研究目的和意义.....	12
第二章 材料与方 法.....	13
1 实验材料.....	13
2 实验方法.....	17
第三章 结果与分析.....	29
1 <i>FT</i> 蛋白在细胞中的定位.....	29
2 <i>FT</i> 蛋白结合在脂筏上.....	33
3 决定 <i>FT</i> 蛋白长距离移动的结构域.....	34
第四章 讨论与展望.....	36
参考文献.....	37
致谢.....	411

CONTENT

Abstract(in Chinese)	1
Abstract (in English)	2
Chapter 1 Introduction.....	3
1 Flowering pathway	3
2 Research about <i>FT</i>	9
3 Lipid rafts	10
4 Protein synthesis and transport	11
6 Purpose and significance	12
Chapter 2 Meterials and methods.....	13
1 Meterials	13
2 Methods	17
Chapter 3 Results and analysis.....	29
1 FT protein localization	29
2 FT protein bind to membrane rafts	33
3 Membrane rafts binding domain of FT protein	34
Chapter 4 Discution and Outlook.....	36
References.....	37
Acknowledgement.....	41

摘 要

拟南芥开花时间调控分为：光周期途径、春化途径、赤霉素途径和自主途径。其中 *FLOWER LOCUS T* (*FT*) 是光周期途径中重要的调控基因，也是四条开花调控途径关键的整合因子。近年来的研究表明 *FT* 蛋白能够从叶片运输到茎尖并诱导植物开花，但其运输机理仍不清楚。本论文针对 *FT* 蛋白在叶片细胞内的定位展开研究，得到以下结果：（1）ER:GFP:*FT* 蛋白分别和内质网、高尔基体、质膜的共定位揭示了 *FT* 蛋白经过分泌途径的运输。（2）质膜中 *FT* 蛋白不溶于非离子去垢剂（Triton X-100），推测 *FT* 蛋白在运输前结合在质膜的脂筏上。*FT* 蛋白结合脂筏的区域是 C 端 35 个氨基酸。（3）*FT* 蛋白可以通过胞间连丝运输。

关键词：*FT* 基因；脂筏；分泌

Abstract

There are four signaling pathways that regulate the flowering time in *Arabidopsis*: photoperiod pathway, vernalization pathway, gibberellin pathway and autonomous pathway. *FLOWER LOCUS T* (*FT*) is an important regulatory gene in photoperiod pathway, and plays a critical role in floral integrated networks as well. FT protein was proved to transport from leaves to apex and induces flowering in last years. However, the underlying mechanism of transportation is unknown yet. This study explored the localization of FT protein and obtained the following results: (1) The co-localization of ER:GFP:FT protein with endoplasmic reticulum, Golgi apparatus and plasma membrane, respectively, indicates a trafficking via the secretory pathway. (2) FT protein binds to the plasma membrane raft which is insoluble in nonionic detergent (Triton X-100). FT protein was found to bind to the plasma membrane raft via its C-terminal domain at the length of 35 amino acids. (3) FT protein was found to be located in the plasmodesmata, suggesting the trafficking pathway via the plasmodesmata.

Key words: *FT* gene; lipid rafts; secretion

第一章 前言

1 开花途径

开花是高等植物由营养生长向生殖生长转变的一个重要生理过程,严格受内源发育信号和环境因子的调控,这种调控的复杂性形成一种网络信号途径。拟南芥开花时间至少受 4 种遗传途径的调控,即:光周期途径,春化途径,自主途径和赤霉素途径。*FLC*、*FRI*、*FE*、*FWA*、*PDF 2*、*SOC1*、*FT* 等控制开花的主效基因相互作用使这 4 条途径相互联系,成为一个整体。成花转变过程中各种成花诱导信号传递到花分生组织特异性基因 *API*、*LFY* 后,使花形态建成^[1]。

1.1 光周期途径

植物对昼夜相对长度的反应称为光周期现象 (photoperiodism)。20 世纪初美国科学家 Garner 和 Allar 用一种烟草突变体首次证实了光周期对开花的影响。植物通过光受体感受光信号后,作用于生物钟,调控某些促进开花基因的表达以及降解某些抑制开花因子,接着花分生组织特性基因表达升高,植株开花。分子遗传方法已经揭示:应答光周期的基因,一部分编码调节蛋白来特异地调控开花,另一部分编码光信号传导途径中的某些成分或参与生物钟的调节。

拟南芥属长日植物,长日条件下早开花,短日条件下最终也会开花。拟南芥开花时间突变体中,有一类突变体长日下晚开花,短日下与野生型相似,它们对春化作用不敏感,称为长日 (long days, LDs) 应答促进途径,此途径只对 LDs 应答的植株的开花有促进作用。*CONSTANS* (*CO*)、*CRYPTOCHROME2/FHA* (*CRY2*)、*GIGANTEA* (*GI*)、*FT*、*FWA* 属于该途径的一部分,其中只有 *CO* 对这条途径是特异的,而 *CRY2*、*GI*、*FT*、*FWA* 在其它途径中也起作用。*FT*、*FWA* 作用于 *CO* 的下游^[2~4]; *CRY2*、*GI* 作用于 *CO* 的上游^[5]。*CO* 编码一个 MADS 转录因子,具有 2 个保守区域: N-端锌指结构,类似于动物的 B-box,作用是调节蛋白之间的互作; C-端含有 43 个氨基酸的 CCT 区域 (*CO*、*CO-like*、*TOC1*),该区域参与 *CO* 蛋白的核定位,但也可能在蛋白互作中起作用^[6,7]。

长日途径中生物钟的作用是调控下游基因的表达,如 *FT*、*API*。参与 *CO* 转录后激活的光受体有 *CRY2* 和光敏色素 A (*PHYA*), *PHYA* 促进开花^[8], *CRY2* 参与光周期感应^[4]。光受体调节 *CO* 的稳定性,光能够稳定核内的 *CO* 蛋白,而早上或黑暗时该蛋白被水解酶降解,光受体对 *CO* 的这种调节进一步说明了 *CO* mRNA 的昼夜节律性^[9]。Jaime F 等^[10]将拟南芥 *CO* 基因转入马铃薯后,发现 *CO* 过量表达会抑制马铃薯块茎的形成,表明 *CO* 可能对所有受光周期调控的应答反应都有影响。

FT 和 *SOC1* 是 *CO* 的直接靶基因。*FT* 作用于各种调控途径的下游,编码一小的、可移动的蛋白。优先在芽顶端表达的 *FD* (一种 bZIP 转录因子),对 *FT* 促进开花是必需的,*FD* 和 *FT* 通过蛋白互作,激活花分生组织特异性基因 *API*,从而促进开花^[11]。*FT* 可能代表了一种长距离信号。

SOC1 也编码一个 MADS 转录因子。研究发现,短日下 *gal-3* 突变体植株不开花,但如果采取一定的措施使 *SOC1* 的表达水平升高,植株会开花。野生型植株用 GA 处理后,开花提早,同时 *SOC1* 的表达水平也升高,说明 *SOC1* 受 GA 的正向调控。还有研究表明 *CO* 是通过 *FT* 来激活 *SOC1*,从而促进开花的^[12]。

1.2 春化途径

在冬性一年及二年生植物的营养生长初期,若给予一定时间的低温处理,可大大加快植物的开花速率。这种低温(一般需要 4℃, 2~8 周)诱导植物开花的过程,称为春化作用。春化作用完成后可在当代通过有丝分裂稳定遗传,减数分裂后消失。近年来通过对拟南芥的分子遗传研究表明:春化作用主要是引起开花抑制基因 *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*) 染色质结构改变,使其处于关闭状态,以解除对植物开花的抑制。在这些种类中有两个座位 *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*) 和 *FRIGIDA* (*FRI*) 的不同。在春化需求型种类中这两个座位是显性基因^[13]。

其中 *FLC* 是春化作用的一个关键基因。*FLC* 已被克隆,含有七个外显子和六个内含子,编码 MADX 盒转录因子。在拟南芥春化需求型晚花种类中 *FLC* mRNA 含量高于非春化需求型早花种类,表明 *FLC* 直接参与春化反应。*FLC* 功能缺失突变体表型为早花证明有活性的 *FLC* 编码开花抑制物^[14]。进一步研究发

现, *FLC* 的表达受 *FRI* 正调控, 受自主途径和春化作用负调控, 是控制拟南芥开花时间的枢纽基因^[15]。春化作用对 *FLC* 的抑制在植物当代经有丝分裂稳定维持, 减数分裂后在植物下一代 *FLC* 的表达又恢复到原来的水平, 这一事实说明春化作用对 *FLC* 的抑制是植物在后天形成的。*FLC* 表达主要集中在有丝分裂活性区域, 如根和茎尖分生组织中^[16]。

另一个春化需求型座位是 *FRI*, *FRI* 蛋白具有两个螺旋-螺旋结构域。在冬性一年生拟南芥中, 该基因可增强 *FLC* 的转录活性。由于功能缺失突变体 *flc* 抑制 *FRI* 对开花时间的影响, 说明 *FLC* 需要 *FRI* 参与延迟植物开花。*FRI* 蛋白的生化功能目前还不清楚, 但通过分子水平分析, 在大多数携带 *FRI* 等位基因的拟南芥早花类型中, 都存在该基因两个特定区域的缺失或一个区域的缺失, 这些区域的缺失可中断 *FRI* 的开放阅读框, 关闭该基因^[17]。

在拟南芥中已发现 6 个与春化作用直接相关的基因 *VRN1*、*VRN2*、*VRN3*、*VRN4*、*VRN5* 和 *VIN3*。*VRN1* 编码 DNA 结合蛋白^[18];*VRN2* 编码核定位锌指蛋白, 与果蝇 Polycomb group protein SU (Z) 12 是同系物^[19]。SU (Z) 12 是通过修饰染色体结构调节基因表达的。*VRN1* 和 *VRN2* 都是组成型表达。另一个春化基因 *VIN3* 含有 4 个外显子, 编码 600 个氨基酸, 该基因在持续冷处理后表达, 并且只有 *VIN3* 被诱导后 *FLC* 的抑制作用才会产生。当转入常温下 *VIN3* mRNA 则检测不到, 表明 *VIN3* 的功能是在春化作用后建立对 *FLC* 的抑制, 这种抑制是短暂的^[20]。染色质免疫沉淀 (ChIP) 显示, 春化作用首先诱导 *VIN3* 表达。*VIN3* 的表达促使 *FLC* 染色体组蛋白 H3 的赖氨酸残基的乙酰基去乙酰化。这种去乙酰化为 *VRN1* 和 *VRN2* 诱导 *FLC* 染色质组蛋白 H3 中赖氨酸残基 9 和 27 双甲基化提供了空间位点^[21], *FLC* 染色质甲基化后基因关闭。当植物回到常温后, *VIN3* 不再表达, 对 *FLC* 的抑制由 *VRN1* 和 *VRN2* 的组成型表达来维持^[21]。所以 *VIN3* 是通过春化作用形成对 *FLC* 的抑制, *VRN1* 和 *VRN2* 则参与对 *FLC* 抑制的维持。*VIN3* 在春化作用的 *vrn1* 和 *vrn2* 中表达, 说明 *VIN3* 位于 *VRN1* 和 *VRN2* 之上。

1.3 自主途径

通过对一系列拟南芥自主途径突变体 (*fca*、*fy*、*fp*、*ld*、*fld*、*flk*、*fve*) 的研究表明: 在长日照和短日照下它们与相应的野生型相比都表现为晚花, 该晚花表

型可以通过春化作用逆转；通过分子水平研究，这些突变体内的 *FLC* mRNA 比其相应野生型高^[22]。进一步研究发现在拟南芥开花时间调控中自主途径的功能是对染色质转录后修饰。

自主途径中有 4 个组份 *FCA*^[23]、*FPA*^[24]、*FLK*^[25]和 *FY* 都编码 RNA 结合蛋白，抑制 *FLC* 的表达，它们对 *FLC* 前体 mRNA 的调节和稳定性在开花控制中是非常关键的，属于转录后调节。其中 *FCA* 是目前了解最清楚的基因。

FCA 编码两个 RNA 结合结构域和一个 WW 蛋白相互作用结构域。*FCA* mRNA 前体在两个位点被选择性剪切，得到 4 种转录物： α 、 β 、 γ 和 δ 。内含子 3 是重要的调节位点。 α 只保留内含子 3，其他内含子被切除。 β 在内含子 3 处剪切并加 Poly (A)。由于在内含子 3 中终止密码子 TGA 的出现，因此 α 和 β 都编码缺乏完整的 RNA 结合结构域的转录物。 γ 和 δ 转录物切除了所有内含子，同时加上了 Poly (A) 尾，但两者在内含子 13 附近碱基的切除有些不同，致使 δ 编码截短的缺乏 WW 结构域的 FCA 蛋白，而 WW 结构域对于 *FCA* 的自我调节是必需的，因此 δ 没有功能。只有 γ 编码全长有活性的 FCA，在开花时间调控中具有启动开花的功能^[26]。*FCA* 的自我负调控在时间上和空间上限制了 *FCA*- γ 的表达量，从而适时启动植物的开花。目前已证明 *FCA*- γ 增加会改变开花各途径之间的平衡，导致花的过早发育。*FCA* 是通过产生 3 种截短的、无活性的转录物限制有活性的 γ 蛋白表达。推测这种转录后的自我调控在拟南芥的生命周期中起重要作用。

FPA 在 N 端含有 3 个 RNA 识别域，在正在发育的组织中表达极强，独立于 *FCA* 调节 *FLC*。*FLK* 是植物特异性核蛋白，编码 3 个 K-homology (KH) domain 的 RNA 结合蛋白。*FLK* 独立于自主途径中的其它基因，它的表达不受 *fca* 和 *fpa* 突变体影响，同时 *flk* 突变体也不影响 *FCA* 和 *FPA* 表达。*FLK* 可能是自主途径中的上位成分。*FY* 是 *FCA* WW 结构域的蛋白伴侣，是 RNA3' 端剪切因子，与 *FCA* 相互作用调节 *FLC* 表达，控制拟南芥开花时间^[27]。*FY* 是高度保守的真核蛋白，与 the *Saccharomyces cerevisiae* protein (*Pfs2p*) 功能非常相似，*Pfs2p* 的功能是对前体 mRNA 剪切得到成熟的 mRNA^[28]。

自主途径中另 2 个组份 *FLD* 和 *FVE* 编码调节 *FLC* 表观遗传因子，对 *FLC* 染色质进行后期修饰，它们的存在对 *FLC* 染色体组蛋白去乙酰化是必要的^[29]。

FLC 染色体组蛋白去乙酰化后, *FLC* 由活化状态转变为非活化状态, 从而启动植物开花。

1.4 赤霉素途径

通过施加外源赤霉素证明 GA 能促进拟南芥开花。影响 GA 生物合成的基因已经克隆出来。*GAI*、*GA4*、*GA5* 对开花时间的调节作用已经报道。*GAI* 编码的二磷酸合成酶催化 GA 合成的第一步, 其突变体 *gal-3* 长日下表现为晚花, 短日下不开花, 且植株严重矮化。*ga4*、*ga5* 突变体不如 *gal* 那么严重, 植株呈半矮化, 而且能开花, 并能形成正常的角果^[30]; *ga4*、*ga5* 突变体分别缺乏 GA 3 β -羟化酶和 GA 20-氧化酶活性。GA 20-氧化酶可能参与 GA 生物合成中关键性的一步。转基因植株中 GA 20-氧化酶的高表达使 GA4 增加, 长日和短日下开花均比野生型早, 表明 GA 水平影响开花时间, 这与施加外源 GA 会使野生型植株早开花的观点是一致的^[31]。

参与 GA 信号传导的有 3 个关键基因: *GIBBERELLIC ACID INSENSITIVE* (*GAI*)、*REPRESSOR OF GAI-3* (*RGA*)、*RGA-LIKE1* (*RGAL1*), 它们编码的蛋白同源性很高, 属于植物特异调节蛋白 *GRAS* (*for GAI*、*RGA*、*SCARECROW*) 家族^[32]。*RGA*、*GAI*、*RGAL1* 在 N-末端有一保守的 DELLA 区域, 该家族的其他成员大多没有这一区域, 在缺乏活性 GA 的情况下, 它们抑制 GA 的应答, 而 GA 可解除这种抑制。通过 *gal* 突变体证实, *GAI*、*RGA*、*RGL1* 基因失活, 在 GA 缺乏时也可发生 GA 应答。*rga*、*gai* 功能缺失等位基因可完全恢复 *gal-3* 突变造成的植株矮化, 完全抑制 *gal* 突变体的不开花表型, 所以短日下这种三突变体只比野生型开花稍早; *rga*、*gai* 双突变体比野生型开花稍早, 说明 GA 生物合成突变体的晚花表型是由于 *GAI*、*RGA* 使开花的活性抑制造成的^[31]。*gal* 突变体的表型可能是由 *RGL1* 及其它的相关基因 (如 *RGL2*、*RGL3*) 负面调控的^[33]。GA 途径与其它开花途径一样调节相同的开花时间基因, 如 *SOC1*。GA 也可通过增强花分生组织特异性基因 *LFY* 的转录活性来促进开花。

1.5 各种途径之间的相互联系

各种途径最终都是调节相同的下游基因表达, 即促进主要的花特异性基因

API、*LFY* 的表达。*LFY* 是发现最早的花特异性基因，它直接激活 *API*。*LFY::GUS* 的融合表达表明 *LFY* 对 GA 和长日途径都有应答。而且 *LFY* 启动子上 *MYB* 转录因子结合位点缺失后，GA 不能激活 *LFY*，而长日途径可以。转 *LFY* 基因的 *lfy* 突变植株，GA 应答元件缺失后，长日下表现为野生型，短日下表现为 *lfy* 突变体表型，说明 *LFY* 的表达需要 GA。长日途径和 GA 途径对 *LFY* 的激活是相互独立的，都作用于 *LFY* 的启动子，而不是激活早期基因来增强 *LFY* 的表达^[34]。

很多研究描述了 GA 途径与其它途径之间的遗传互作。遗传分析表明 GA 途径可能与长日途径起相同作用。损伤长日途径的 *co* 突变与 *gal* 突变形成的双突变体在长日下不开花，表明短日下（长日途径无活性）GA 途径是主要的，这一途径功能缺失后阻止开花。长日下，无活性的 GA 途径对开花的影响不大，因为这时长日途径起主要作用。*FLC* 能抑制顶端 GA 的活性，因此能抑制开花，春化作用通过降低 *FLC* 的水平能消除这种抑制。然而 *gal-3 FRI FLC* 植株，不经春化在长日下永不开花，冷诱导后与 *gal-3* 单突变体开花一样早，说明植物在长日下对春化作用的响应不需要 GA。春化作用与 GA 促进开花是通过各自独立的途径进行的^[35]。近来研究发现 DNA 的甲基化与春化作用也有一定的相关性，但却不属于春化途径的部分^[36]。长日途径与自主途径之间是相对独立的。例如，自主途径的成分 *FLC* 表达升高后，植株开花推迟，但不会降低长日途径中 *CO* 的表达。同样 *CO* 基因的突变不会影响 *FLC* 的表达。作用于 *FLC* 和 *CO* 的下游基因有 *SOC1* 和 *FT*。*SOC1* 编码 MADS-box 蛋白，受 *CO* 激活，受 *FLC* 抑制，同时也受 GA 的正向调节，因此是诱导开花的不同途径之间的交叉点^[37]。*FT* 基因也受 *CO* 激活，受 *FLC* 抑制，是长日途径、春化途径和自主途径的下游基因^[2,38]（见图 1）。

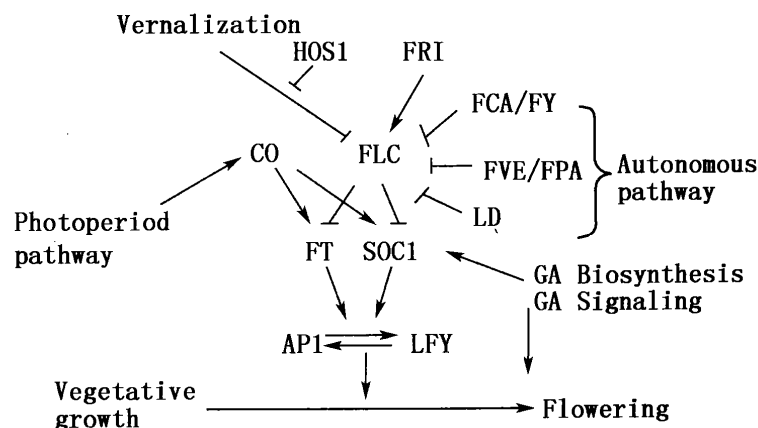


图1 调控拟南芥开花时间的各途径之间的关系

Fig.1 The relationship between the ways of regulating *Arabidopsis* flowering time.

注：箭头表示促进作用，短横线表示抑制作用

FT 与花分生组织特异型基因的表达之间的关系在遗传和分子水平上得到阐述。*ft* 突变不会降低 *LFY::GUS* 的表达，表明 *FT* 不在 *LFY* 上游起作用。*ft*、*lfy* 双突变体对花的发育具有很强的协同作用，而 *ft*、*ap1* 双突变体没有此作用，表明 *FT* 与 *LFY* 之间是平行的。*FT* 激活其它花分生组织特异性基因 *API* 的表达。*LFY* 和 *API* 的初级激活是平行发生的，随后 *LFY* 对 *API* 的直接激活对于花分生组织特异性基因表达的快速增强可能是必需的^[39]。拟南芥中 *FT* 属于一个小基因家族，包括 *TFL1* (*TERMINAL FLOWER1*)，植物中该家族的蛋白功能还不清楚。然而，*TFL1* 的金鱼草同源基因 *CEN* (*CENTRORADIALIS*)，可与磷酸基团相互作用^[40]。因此，*FT* 基因的序列与它通过调节级联磷酸化调控开花是一致的。

2 *FT* 的研究

在子叶和叶脉中表达的 *FT* mRNA 是“成花激素”信号中非常重要的部分，可从叶片运输到芽顶端^[41]。但也有研究认为成花诱导中其重要作用的是从叶片长距离运输到茎尖的 *FT* 蛋白^[42~44]。将 *SUC2::FT::GFP ft-7* 的芽嫁接到 *ft-7* 的根或芽上 *FT::GFP* 蛋白可以在 *ft-7* 中检测到，而 *FT* mRNA 却检测不到^[42]。韧皮部特异表达的 *SUC2::FT* 转入 *ft10* 之后呈现早花表型^[44]。当融合入核定位信号

(NLS)，*ft-10* 植株不能早花，这表明 *FT* 定位在细胞核会阻断其向顶端的运输从而晚花。人工合成 *FT* 的 miRNA (*amiR-FT*)，用 *SUC2* 启动子表达时植株晚花；而用 *FD* 启动子表达时开花时间正常^[45]。结果表明 *FT* mRNA 对开花是必要的。另外，为了检测 *FT* 是否充当一个非细胞自主的 RNA，用拟南芥嫁接和 RT-PCR 来检测接穗中的 mRNA^[45]。转基因和非转基因的接穗（茎尖）还有上胚轴的茎干上面的叶片都可以检测到 *FT* RNA 信号，说明 *FT* mRNA 确实是长距离移动的。用一种侵染短日照马里兰马莫斯 (*Maryland Mammoth*) 烟草的马铃薯病毒载体 X (PVX) 使 *FT* 和 *FT* 翻译阻断的突变体 (*mFT*) 的异位表达的手段也证明非细胞自主的 *FT* mRNA 运输至茎尖促进了烟草 *FT* 蛋白的长距离运输。*PVX::FT* 在

短日照和长日照下都促进烟草开花。然而, *PVX::mFT* 侵染的植株在短日照下早花; *mFT* mRNA 在整株的叶片中都可以检测到, 同时 *mFT* mRNA 也确认在突变体中不翻译^[46]。

最近有研究报道了新发现的一个定位内质网的蛋白 *FT-INTERACTING PROTEIN 1 (FTIP1)*, 它在韧皮部的伴胞中与 FT 作用, 并调节 FT 蛋白从伴胞向筛管的运输, 以此影响 FT 蛋白向茎尖分生组织的运输^[47]。

3 脂筏

细胞质膜的研究表明有生物活性的质膜并不是蛋白质和脂类的匀质层, 反而是不同的蛋白质和脂类组分形成不均匀的区域。这些膜上的微区域被认为是“脂筏”。脂筏假说认为脂类和蛋白不是均匀分布在膜中, 而是形成不连续的“岛屿”。一个有关哺乳动物上皮细胞中极细胞膜双分子层构成的研究指出, 质膜顶端和基底在脂类分布上的差异表明质膜组成不同的区域而不是同质层^[48]。“脂筏”这个名称原本是用来形容质膜顶点的富含固醇和鞘磷脂的微区域。微区域被认为在细胞功能中用来提供一种动态的脚手架, 包括信号与胁迫反应(生物性和非生物性)和细胞交流。脂筏功能上的定义是化学性的, 是根据脂筏可以在膜中形成有序的液相从而使其因为非离子去垢剂(Triton X-100 等)的不溶性被迅速分离出来。

脂筏已经在酵母和植物中被分离出来。Peskan 等人最早从植物(烟草叶片)中分离出来去垢剂不溶性的膜碎片, 他们找到了在动物脂筏中具有代表性的蛋白, 包括异源三聚体 G 蛋白和糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定蛋白。有研究分析了烟草中去垢剂抗性膜(DRMs)的脂类组分, 与动物和酵母脂筏一致(胆固醇在动物细胞中不仅是脂筏的标志而且是必要条件), 植物脂筏中也含有固醇和鞘磷脂同时大部分不含磷脂^[49]。

脂筏不确定性观点仍然存在因为其分离方法。DRM 分离的一个通用方法是用去垢剂 Triton X-100 在 4 度下分离。但低温可以改变脂筏的行为, 去垢剂也证明促进脂类微区域的形成^[50]。低温和去垢剂也同时影响蛋白质。有研究比较了两种常用的分离方法: 去垢剂增溶法和超声波降解法, 分离出的脂质组分相似但是蛋白组成上稍有不同^[51]。另外一个复杂的因素是, 用脂筏中的蛋白不能充分代表膜上的蛋白组分, 阻碍了低丰度蛋白的分析。此外质膜蛋白组分也会因为组

织形态，发育时期，环境条件而有所不同。

不久前的研究表明经过一种游离固醇螯合剂 $m\beta CD$ （甲基 β 环糊精）的处理，脂筏可以溶解于 Triton X-100 中，并且在蔗糖梯度离心中与不经处理的脂筏相比发生偏移。但 $m\beta CD$ 的处理不会改变脂筏蛋白的总量，而是使其由聚集状态变为任意分布状态^[52]。

4 蛋白质的合成和运输

4.1 蛋白质的合成

蛋白质是维持细胞正常工作的非常重要的生物大分子。细胞所进行的一切活动都离不开蛋白质的参与。细胞中进行蛋白质合成的细胞器是核糖体。核糖体在细胞内由几个甚至几十个核糖体串联在一条 mRNA 分子上高效地进行肽链的合成。这种具有特殊功能与形态结构的核糖体与 mRNA 的聚合体称为多聚核糖体^[53]。它们一部分分布于细胞质基质中，称为游离核糖体，另一部分分布于粗面内质网的胞质面上。因此细胞中蛋白质的合成场所有两处，一处位于细胞质基质中，另一处位于粗面内质网上。但是细胞内蛋白质众多，并且在细胞的不同区域发挥着各种不同的功能，因此合成的蛋白质就需要被转运到相应的区域。

4.2 蛋白质的分泌

无论在真核或原核细胞，分泌性蛋白质在合成完成后，或者出胞或者在细胞内积累^[54]。一般而言，决定蛋白质命运的是蛋白 N 端一段额外氨基酸序列，即信号肽或信号序列（signal peptide or signal sequence）^[55]。初生蛋白正确定位后，信号肽被信号肽酶水解，初生蛋白释放，经过折叠等立体构象的变化，转变为成熟的蛋白质。

分泌蛋白是指那些分泌到细胞膜外的蛋白质。真核生物具有复杂的内膜系统，包括内质网、高尔基体、分泌小泡、浆膜、具有水解作用的封闭性区室，植物中为大液泡，动物中为溶酶体以及中间体。内膜系统对于分泌蛋白的合成、加工及转运具有重要作用，而且分泌途径主要是由内膜系统构成的，其中最重要的是内质网和高尔基体。内质网在分泌蛋白的合成、折叠、组装、转运及质量控制

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库